OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	MPP+induces necrostatin-1- and ferrostatin-1-sensitive necrotic death of neuronal SH-SY5Y cells
Author(s)	伊藤, 奎亮
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61611
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	伊藤　奎亮
論文題名 Title	MPP+ induces necrostatin-1- and ferrostatin-1-sensitive necrotic death of neuronal SH-SY5Y cells (MPP+により誘導される新たなネクローシス型神経細胞死)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

細胞死の制御メカニズムの理解は、種々の疾患を治療するうえで重要と考えられる。これまでの細胞死研究はアポトーシスを中心になされてきたが、生体では細胞膜破綻を呈す非アポトーシス（ネクローシス）型の細胞死も生じていることが知られており、そのうち一部は遺伝子によって制御されることが近年報告されている。これまで神経変性疾患は神経細胞死を特徴的な所見の一つと捉え、その細胞死メカニズムについてアポトーシス誘導機構を中心に研究がなされてきたが、未だ神経細胞死を直接阻害する薬の創出はなされておらず、またそのひとつの疾患モデルである薬剤誘導性パーキンソン症候群モデルにおいて、アポトーシス阻害剤で神経の脱落が抑制されないことやアポトーシス様の所見が組織で確認されないといったことも報告されていることから、疾患の発症に際しメカニズムのわかっていない非アポトーシス型細胞死の関与が示唆されている。

本研究では、非アポトーシス型細胞死の関与が示唆されている、実験的にパーキンソン症候群を誘導することができる薬剤1-methyl-4-phenylpyridinium(MPP+)によって誘導される細胞死メカニズムの解析を神経様に分化誘導した細胞株を用いて行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

解析対象の神経様細胞として、ドパミン作動性ニューロン様細胞として広く研究利用されているヒト神経芽腫由来細胞株SH-SY5Yを、血清含有レチノイン酸(RA)添加培地で一次分化誘導し、続いて血清不含脳由来栄養因子(BDNF)添加培地で二次分化誘導してより高度に非増殖性を獲得した神経様細胞を用いた。

この神経様細胞にMPP+を処理すると、カスパーゼ（アポトーシス実行因子）の阻害剤では抑制されない細胞死が誘導された。この細胞死は制御された細胞死の一つであるネクロプトーシスの特異的阻害剤necrostatin-1(Nec-1)によって強く抑制されたが、Nec-1と同様にインドール環をもつがネクロプトーシスを阻害しない3'3-diindolylmethane(DIM)によってもNec-1と同等に抑制された。またこの細胞死は、ネクロプトーシス誘導に必須のタンパク質であるreceptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1/3(RIP1/RIP3)非依存的に起こることから、ネクロプトーシスとは異なるメカニズムであると推定された。さらにこの細胞死は、制御された細胞死の一つとして報告されているフェロトーシスの阻害剤ferrostatin-1(Fer-1)や鉄イオンキレーターdeferoxamine(DFO)、抗脂質過酸化剤Troloxで抑制され、フェロトーシスの細胞死様式の特徴とされる脂質過酸化や鉄イオン添加による促進を呈したが、一方でこの細胞死はフェロトーシスと異なり、Nec-1感受性、N-acetylcysteine(NAC)非感受性、ミトコンドリアの膨潤と膜電位の低下、細胞内ATPレベルの低下、p53非依存性、ニッケルイオン添加による促進を呈した。以上のことから、MPP+による細胞死はフェロトーシスと共通する特徴を示すが、異なるメカニズムで誘導されていることが示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究において、MPP+によるネクローシス型細胞死はフェロトーシスと共通する特徴を示したが、相違する特徴も示した。フェロトーシスと同じくこの細胞死も実行に必須な因子が同定されていないため、現時点で明確にこれら二つの細胞死の区分はできていないが、誘導された細胞死の所見の違いからこれまでに報告のない細胞死メカニズムで誘導されている可能性がある。また、パーキンソン病においても黒質緻密部での鉄蓄積が確認され、蓄積された鉄により生じる脂質過酸化が神経細胞死の原因の一つではないかと考えられていることから、この新たなネクローシス型細胞死メカニズムを明らかにすることは、パーキンソン病や一部のパーキンソン症候群で認められる、制御されないと考えられてきた神経細胞死を抑制する方法の開発に貢献できるのではないかと期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　伊藤奎亮

論文審査担当者	（職）	氏名
主　査	大阪大学教授	望月秀樹
副　査	大阪大学教授	島田昌一
副　査	大阪大学教授	永井義隆

論文審査の結果の要旨

本論文は、実験的パーキンソニズム誘導薬剤MPP+による細胞死のメカニズムについて、神経細胞様に分化誘導した細胞株を用い解析したものである。これまでMPP+誘導によって起こる細胞死はアポトーシスのみを中心に研究がなされてきたが、アポトーシスの制御だけで細胞死が完全に細胞死が抑制されないことやアポトーシスでは認められない形態の所見が報告されていることから、メカニズム不明の細胞死の関与が示唆されてきた。本論文では、MPP+によってアポトーシス以外の細胞死が誘導されるのであればどのような細胞死が起こっているのかを、主にMPP+による細胞死を抑制する低分子化合物の探索と細胞死誘導時に認められる特徴的な形態変化の観察を行い、既知の制御された細胞死との比較によって、明らかにすることを試みている。その結果、MPP+によって新たなメカニズムで細胞死が誘導されている可能性を示した。本論文によって、新たな細胞死を示したこと、新たなパーキンソニズムにおける細胞死抑制方法を提案したことは、進行性の神経脱落性疾患の治療戦略の構築に寄与できるものと考えられる。よって本論文は、博士（医学）学位に値するものと認める。